Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines.

Beitrag zur Kenntnis der Hefen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

bei der

Hohen philosophischen Facultät

der

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

vorgelegt von

KARL BÖRSCH

aus

EDENKOBEN (RHEINPFALZ.)

W93

Druck von H. Mietens, Edenkoben.

Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines.

Beitrag zur Kenntnis der Hefen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

bei der

Hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

vorgelegt von

KARL BÖRSCH

aus

EDENKOBEN (RHEINPFALZ.)

Druck von H. Mietens, Edenkoben.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535711_0179

Seinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

vom Verfasser.

Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines.

Beitrag zur Kenntnis
der Bakterien des Weines.

In kurzer Zeit hat sich die Bakteriologie zu einer Wissenschaft emporgeschwungen, an der sowohl Männer der Wissenschaft als auch Laien ein reges Interesse bekunden. Es darf aber auch nicht wundern, wenn diese kleinen pflanzlichen Gebilde die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich ziehen, sind sie doch die Urheber zahlreicher Vorgänge, die sich für die gesamte übrige Natur in oft tiefgreifender teils feindlicher, teils freundlicher Weise vollziehen.

Von den Männern der Gelehrtenwelt, die sich in neuester Zeit ein Hauptverdienst in diesem Fache erworben haben, ist besonders Robert Koch zu nennen, der mit grossem Scharfsinn die Herstellung der Reinkultur auf ziemlich einfachem Wege gelehrt hat und somit ein Mittel in die Hände des Experimentators legte, welches das Arbeiten mit diesen Microorganismen zu einem vorurteilsfreien und exakten gestaltet.

Es würde hier zu weit führen, auch nur eine Uebersicht über die wichtigsten Errungenschaften auf diesem Gebiete zu geben. Ist ja schon die Literatur über einzelne besonders patogene Bakterien zu reinen Bibliotheken herangewachsen, deren Zerstreutheit oftmals das Studium sehr erschweren.

Aber nicht nur der Mediziner bedient sich mit grossem Vorteil dieser jungen Wissenschaft, sondern auch im übrigen Leben, in der Landwirtschaft, vielen technischen und besonders dem Nahrungsmittelgewerbe haben wir mit diesen Spaltpilzen in vieler Hinsicht zu thun und gebieten sie dem in diesen Branchen Arbeitenden, sehr oft auf sie seine vollständige Aufmerksamkeit zu lenken.

Die Anregung zu vorliegender Arbeit gab ein Vertreter dieser oben erwähnten kleinen Lebewesen, eine Sarcine.

Bevor ich zum eigentlichen Thema übergehe, will ich nur in kurzen Zügen die Art des Arbeitens mitteilen, um eine Langatmigkeit im späteren Verlauf des Beitrages, so weit möglich, zu vermeiden.

Wenn von dieser Regel in besonderen Fällen abgewichen werden musste, teile ich es bei den einzelnen Versuchen mit.

Die Darstellung der Reinkultur wurde durch das allgemein bekannte Plattenculturverfahren nach Koch bewerkstelligt.

Die Sterilisation von Nährmedien geschah meistens mit strömendem Wassersdampf von 99° Celsius an drei aufeinander folgenden Tagen, jeweils eine halbe Stunde vom Thermometerstand »99« an gerechnet. Bei der Sterilisation sauerer Nährgelatinen, die durch die oben erwähnte Methode ihre Fähigkeit zu gelatinieren verlieren würden, wurde in der Weise abgewichen, dass dieselben an vier aufeinander folgenden Tagen jeweils eine viertel Stunde obiger Temperatur ebenfalls dem Wasserdampf ausgesetzt wurden. Gegenstände wie Kolben, Reagensgläser, Agarschalen etc. setzte ich zwei Stunden einer Temperatur von 140—150° Celsius im Trockenschrank aus.

Feuchte Kammern erhielten jeweils am Boden, der Decke und den Innenwänden einen Belag von 2‰ Sublimat-Kochsalzlösung (2‰ Sublimat) getränktem Filtrierpapier, während die Bänkchen derselben mit dieser Lösung abgewaschen wurden. Platinnadeln und Glasstäbe wurden in der Flamme sterilisiert und in der feuchten Kammer abkühlen gelassen.

Zur Darstellung der Gelatinen wurde im Winter 8%, im Sommer 10%, bei sauern Gelatinen 12% feste Gelatine, oder 1,5% Agar-Agar verwendet.

Eine der unangenehmsten Krankheiten, denen Flüssigkeiten ausgesetzt sind, bildet das sogenannte Zäh-, Lang- oder Schleimigwerden. Man ist lange über die Ursachen, die dieses Uebel hervorbringen, unklar gewesen und dürften es wohl auch heute noch Ansichten geben, die dasselbe rein chemischen Umsetzungen zuschreiben. Seitdem jedoch die Kenntnis der Bakterien in ihr jetziges Stadium getreten, ist es sowohl durch Impfversuche festgestellt, als auch durch microscopische Untersuchungen erkannt worden, dass Microorganismen hier ihre Hand im Spiel haben.

Einer der ersten, der wohl in dieser Hinsicht ein richtiges Urteil gehabt haben dürfte, war Pasteur (Etudes sur la bière 1876, Etudes sur le vin 1866), der kugelige Orga-

nismen sah, die in Rosenkranzform angeordnet waren und als Ursache des schleimigen Bieres, Weines, Bierwürze und Rohrzuckerlösung angegeben wurden. Neben dem Schleime wurde die Bildung von Kohlensäure und Mannit beobachtet. Ebenso sah er Zellen, welche grösser waren als Saccharomyces cerevisiae und wohl kaum als zu den Bakterien gehörig angesehen werden dürften.

Nessler (die Bereitung, Pflege und Untersuchung des Weines 1889), der sich mit dem Zäh-, Weich-, Lind-, Langwerden in einem Kapitel obigen Werkes beschäftigt, tritt der Ansicht Pasteurs in mancher Hinsicht entgegen.

Nachdem er der rein chemischen Seite und eines Vorbeugungsmittels gedenkt, legt er sich folgende drei Fragen vor:

1) Kann durch die Hefe von zähem Wein oder durch letzteren selbst eine Schleimbildung eingeleitet werden?

2) Welcher in dem Most oder in dem Wein enthaltene Bestandteil geht bei dem Zähwerden in Schleim über?

3) Welche Einwirkung haben die übrigen Bestandteile des Weines auf dessen Zähwerden?

In seiner Beantwortung zweifelt er keinen Augenblick, dass es pflanzliche Gebilde sind, die an dem Zähwerden der Flüssigkeiten mitwirken, und beweist dieses durch verschiedene Experimente.

Die von Pasteur beschriebenen rosenkranzförmigen Schnüre erachtet er jedoch nicht als unbedingte Krankheitserreger, da sie in manchen zähen Weinen fehlen; dagegen fand er überall runde bewegliche Körperchen, die bei 500-facher Vergrösserung noch als Punkte erschienen, also wahrscheinlich Micrococcen.

Auf Frage »zwei« antwortet er: Der Schleim kann im Wein aus noch nicht vergohrenem Zucker oder durch Zersetzung von Kuhnen und Hefe entstehen. Es erfolgt alsdann durch Impfversuche (allerdings nicht mit Reinkultur) der Beweis zu diesem Satze. Bei einem Gehalt von 0,4% bis 1% Zucker wurde die Flüssigkeit schon stark zäh, stärker sodann bei 5% bis 10% Zucker. Als Maximalgrenze an Alkohol, bei der das Zähwerden aufhört, nennt er 10 bis 11 vol. Prozente, ebenso soll ein Gerbstoffgehalt des Weines die Fähigkeit zum Zähwerden verhindern. Schweflige Säuere verhindert ebenfalls diese Krankheit. Ferner beobachtet er das Auftreten von Kohlensäuere, welche er als Folge des Uebels angibt.

Dass Kuhnen die Ursachen des Langwerdens sein können, glaubt er durch Schütteln des Weines mit solchen zu beweisen.

Die Wärmegrade haben nach Nessler ebenfalls einen erheblichen Einfluss und zwar so, dass bei 5° Celsius noch ein Zähwerden stattfinden kann, dasselbe bei 12° bis 15° C. erheblich schneller von Statten geht, während ein zäher Wein bei 30° C. diese Eigenschaft wieder verlor. Rote Weine sollen in Folge ihres Tanningehaltes sich weniger zum Zähwerden eignen, doch ist es bei ihnen nicht ausgeschlossen. Eine besondere Prädestination sollen die Moste haben, welche aus gewissen Traubensorten, z. B. Sylvener hergestellt sind. Einem Gehalt an Essigsäuere schreibt er einen grossen Einfluss auf das Zähwerden nicht ganz vergohrener Weine zu.

Es folgen nun Angaben von Mitteln, die das Zähwerden einesteils verhindern anderenteils wieder beseitigen sollen, die aber als nicht hierher gehörig keine Erwähnung finden können.

In einer Anmerkung spricht er noch die Ansicht aus, dass zwei verschiedene Pflänzchen das Lindwerden zu bedingen scheinen, zu welchem Punkte wir weiter unten noch zu sprechen kommen.

Wenn diese verschiedenen Ansichten und Untersuchungen uns über vieles in dieser Sache Aufschluss geben, so lassen sie uns doch niemals durch exakte Impfversuche in vorher notorisch keimfreien Nährmedien, also hier Wein, die wahre Ursache klar und einwurfsfrei erkennen.

Bersch (die Praxis der Weinbereitung 1889) schreibt die Krankheit des Langwerdens ebenfalls einem Ferment zu, das er als aus ungemein kleinen Zellen von Kugelgestalt bestehend, welche sich bisweilen zu einer langen Reihe von perlschnurartigen Gebilden vereinigen, beschreibt. Er bezeichnet den dabei stattfindenden Vorgang als Mannitgährung, da es sich zeigte, dass Reste des unvergohrenen Zuckers in Mannit umgewandelt waren. Neben Mannit soll das Auftreten geringer Mengen von Essigsäuere und Milchsäuere (?) wahrgenommen werden.

E. Kramer (Sitzungsbericht der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien 1889) tritt der Ansicht Pasteurs entgegen, dass dieselben Micrococcen, welche das Bier und den Wein schleimig machen, auch in Rohrzuckerlösung dieselbe Erscheinung hervorbringen. Er beweist durch Impfung, dass der von ihm benannte Bacillus viscosus sacchari

nur im Stande ist, neutrale oder schwach alkalische Zuckerlösung zum gelatinieren zu bringen, während in keinem einzigen Fall dieses mit Wein gelang.

Nessler drückt in seinem oben genannten Werk eine ähnliche Meinung aus, indem er sagt, dass Rohrzucker und Traubenzucker in dieser Beziehung sich wesentlich verschieden verhalten. Rohrzucker wird nach ihm in neutraler Lösung, nach Zusatz von Nährsalzen oder Hefeabkochung sehr bald zäh; der sich bildende Schleim wird durch Weingeist als eine zähe Masse herausgefüllt. Traubenzucker wird in neutraler Lösung nicht zu Schleim. Geht in sauerer Lösung der Traubenzucker in Schleim über (es scheinen zwei verschiedene Pflänzchen wirksam zu sein) so wird der letztere entweder überhaupt nicht oder doch nicht als zähe Masse durch Weingeist ausgefüllt.

E. Kramer (Die Bakteriol. in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft und den landwirtsch. Gewerben 1892) ist der Ansicht, dass es kein spezifischer Microorganismus ist, der den Wein schleimig macht, sondern, dass wir es mit mehreren zu thun haben.

Kramer untersuchte drei Weissweine verschiedener Herkunft, die schleimig geworden waren, mikroskopisch und fand in allen Präparaten folgende Mikro-Organismen:

Ziemlich dünne und dabei verhältnismässig lange Stäbchen-Bakterien. Dieselben hatten eine Länge von 2 bis 6 μ. und eine Dicke von 0,60 bis 0,80 μ. Dabei bildeten sie sehr häufig Scheinketten bis zu einer Länge von 14 μ., ohne dass in denselben ein einziges Glied eine Trennung von dem anderu zeigte. In andern Fällen konnten die Kettenglieder, wenn selbe auch noch im Zusammenhang standen, deutlich unterschieden werden.

Im hängenden Tropfen zeigten sie keine Eigenbewegung, wohl aber eine Molecularbewegung. Im zähen Wein kommen diese Bacillen in so grosser Menge vor, dass man schon aus der einfachen mikroskopischen Untersuchung zäher Weine in ihnen den eigentlichen Erreger der schleimigen Gährung vermuthen könnte. Lässt man zähen Wein einige Zeit stehen, so bildet er einen Bodensatz, welcher aus Schleim besteht. Untersucht man diesen Schleim, so findet man in demselben eine grosse Menge obengenannter Bacillen.

Nebst diesem Bacillus konnten, wie leicht begreiflich ist, in jedem zähen Wein Saccharomyus ellipsoideus, in kleinen Mengen auch Saccharm. mycoderma und Mycoderma aceti,

sowie Bakterien, die höchst wahrscheinlich auf den Bac. acidi lactici zurückzuführen sind, aufgefunden werden.*)

Die Herstellung einer Reinkultur obigen Bacillus gelang Kramer nicht, trotz der Anwendung verschiedenster Nährböden.

Er impfte nun einen Monat alte sterile Weine, die sich in sechs Erlenmeyerschen Kölbchen befanden, mit dem schleimigen Wein, verschloss 2 Kolben nur mit Watte, 2 mit Watte und Korkstopfen, die 2 weiteren bedeckte er mit einer 2 cm. hohen Schicht sterilen Oeles und verschloss sie nun auch mit Watte. Die Resultate dieser Impfungen waren folgende: In den beiden ersten nur mit Watte verschlossenen Kölbchen trat schon nach Verlauf einiger Tage die alkoholische Gährung ein, da zweifellos durch die Impfung einige Saccharomyceten in dieselben übertragen wurden. Selbst nach sechs Wochen waren dieselben noch nicht schleimig geworden. In den mit Watte und Kork verschlossenen Kölbchen bildete sich eine Kahmhaut. Der Wein blieb zwar klar, aber noch sechs Wochen war er schwach schleimig.

Der mit Oel überschichtete Wein zeigte zwar im Anfang etwas Trübung, die sich jedoch nach und nach zu Boden legte. Nach sechswöchentlichem Stehen zog sich der Wein beim Ausgiessen in Fäden bis zu 2 dm. Länge.

Was das mikroskopische Bild der sechs Impfversuche anbelangt, so waren in den ersten beiden nur Spuren, in den zweiten beiden grössere Mengen, in den zwei letzten sehr grosse Mengen obigen Bacillus zu sehen, von andern Organismen nur Spuren. Verschiedene andere Impfungen ergaben nach 4 bis 8 Wochen die gleichen Resultate. Kramer nannte diesen Bacillus Bacillus viscosus vini Kramer. Wie wir sehen und wie auch Kramer mitteilt, ist derselbe streng anaërob. Sein Temperaturoptimum gibt er bei 18° C. liegend an, die von ihm aus Dextrose gebildete Substanz hält er für ein Kohlenhydrat von der Formel $C_6 H_{10} O_5$.

Die Schleimbildung der Milch, des Bieres, der Zuckermelasse, vieler Medizinen, ja selbst der Tinte wird von den verschiedenen Forschern als durch Bakterien hervorgerufen beschrieben.

Wie wir oben gesehen, sind bis jetzt nur Coccen und Stäbchenbakterien als die Ursachen des schleimigen Weines

*) Die beiden letzten Mikroorganismen erinnern lebhaft an den chemischen Befund schleimiger Weine durch Bersch.

erkannt und beschrieben worden. Neu dürfte jedoch sein, dass bei dieser Krankheit auch eine Sarcine gefunden wurde, welche wohl ebenfalls als Ursache dieses Uebels in bestimmten Fällen angesehen werden muss.

Die microscopische Untersuchung eines solchen Weines, der längere Zeit in einer etwa zur Hälfte gefüllten einige Liter fassenden Flasche gestanden und schleimig geworden war, ergab:

1) Eine sprossende kleine Hefe in geringer Zahl,
2) Eine grosse Sarcine in grösserer Menge, der Verbände fehlten.

Aus diesem Wein wurde zunächst eine Plattencultur angelegt und auf diese Weise wieder die Hefe als auch die Sarcine und zwar letztere in matt glänzender canariengelber Colonie erhalten. Die Randform letzterer war schwach gelappt bis gezähnelt und sah man bei 200facher Vergrösserung in kurzem Abstand vom Rande oft einzelne unregelmässige sehr kleine Complexe, die die eigentliche Kolonie umgrenzten und welche wie zu derselben nicht gehörig erschienen. Der Wein war einige Jahre bevor diese Krankheit entstanden war durch seine starke Rechtsdrehung als mit Stärkezucker verfälscht erkannt worden, liess jedoch jetzt nach Entfernung des Schleimes nur noch eine normale Drehung erkennen.

Nach diesen Befunden war nichts anders vorauszusetzen, als dass in dem Weine die der Sarcine eigentümliche Membranverschleimung (Zoogloea) das Zähwerden bedingt und durch Assimilation der für Hefe schwer vergährbaren, rechts drehenden Körper des Stärkezuckers die normale Drehung bedingt wurde.

Bekanntlich assimilieren Mycelpilze, optisch aktiv verschiedene, organische Säueren und andere derartige Verbindungen ungleich leicht, so dass hierauf eine Methode gegründet werden konnte, diese Körper von einander zu trennen. Da Bakterien und Mycelpilze, überhaupt niedere Kryptogamen sich in vielen Lebensäusserungen gleich verhalten, gilt das oben Gesagte auch von Bakterien. Es war somit die Annahme berechtigt, dass die rechtsdrehenden Körper durch die Sarcine entfernt wurden.

Bevor ich zu den Resultaten der Infectionsversuche übergehe, gebe ich die allgemeine Beschreibung der Sarcine und einen Vergleich mit ihr ähnlichen.

Die Kolonienform wurde oben schon beschrieben. Die einzelnen Zellen (Gelatineculturen) *) differieren in ihrer Grösse zwischen 1 μ. bis fast 2 μ.; die der Agar-Culturen sind etwas grösser und erreichen meistens einen Durchmesser von 2 μ. In jungen Colonien bemerkt man weniger grosse Verbände, jedoch herrschen dieselben in älteren vor und sind dann meistens unregelmässig, so dass die Sarcineform oft auf den ersten Blick nicht erkannt werden kann. In älteren Colonien konnten Verbände bis zu 36 Zellen im Durchmesser gefunden werden, einzelne Würfel sowie Diplococcen fanden sich daneben. Die einzelnen Zellen sind vollständig rund und liegen nie (mit Ausnahme der in Teilung begriffenen) mit geraden Flächen an einander. Der durch diese Anordnung geschaffene Zwischenraum erscheint meist stark lichtbrechend und wurde bekanntlich früher für den Zellkern gehalten, indem man die vier Zellen für eine ansah. Oft bemerkt man, durch eine unsichtbare Masse zusammengehalten, zwei Diplococcen, durch Wasserströmung zwischen Deckglas und Objectträger veranlasst, durch das Gesichtsfeld schwimmen und sich dabei um eine gemeinschaftliche Achse drehen, welch' letztere durch die Berührungspunkte der beiden jeweils zusammenhängenden Zellen zu gehen scheint. Die einzelnen Zellen sind gleichmässig lichtbrechend und lassen manches Mal ohne Tinktionsmittel ihre äussere Schleimschicht erkennen; sie ist meistens etwas breiter als die einzelnen Zellen. Durch Chlorzinkjod färbt sich das Protoplasma gelb, die Membran nicht. Wird auf gewöhnlichem Wege (Fixieren und Abtöten durch Wärme) mit Anilinfarben tingiert, so geht die regelmässige Form meist ganz verloren. Die Zoogloea kann dadurch sichtbar gemacht werden, dass man nach dem Abtöten mit Carbolfuchsin wie gewöhnlich färbt, dann das Präparat circa 24 Stunden in einer concentrierten wässerigen Campecheholzextraktlösung liegen lässt, und nur mässig mit Wasser abwäscht. Die einzelnen Zellen erscheinen dann rotviolett, ihre Schleimschicht gelb. Bei gewöhnlicher Temperatur wächst die Sarc. sehr langsam, so dass man nach der Aussaat oft nach vier Wochen erst die Anfänge der Colonien mit blossem Auge erkennen kann. Anders verhält es sich bei Temperaturen um 25° C. Bei diesen Wärmegraden erhielt ich nach vier Tagen in Agarplattenculturen**) stets

*) Es wurden stets Glykose-Fleischwasser-Pepton-Gelatine resp. Agar benützt.

**) Die Plattenculturen stellte ich in Agarschalen her.

Colonien von einigen Millimeter Durchmesser und bei Gelatineplattenculturen hatten sich dieselben in sechs Tagen (nach Aussaat) unter gleichen Verhältnissen meist vollständig verflüssigt. In letztem Falle trat dann mit der Länge der Zeit zunehmend ein an schwefelsaueres Thallin erinnernder Geruch auf, während sich das Papier in der feuchten Kammer in einem Hof um die Agarschale gelb färbte. Diese gelbe Farbe konnte durch die gewöhnlichen Lösungsmittel, wie Säuern, Alkalien, Alkohol etc. nicht weggewaschen werden, ebenso gab die microscopische Untersuchung keine Erklärung derselben. Eine Säuerung der Colonien konnte mit sehr empfindlichem Lackmuspapier nicht constatiert werden. Stichculturen in Gelatine wachsen mit Ausnahme des untersten Teiles längs des Stichkanals in kleinen körnigen Partien in das Nährmedium, dann beginnt von oben eine Verflüssigung je nach Temperatur rascher oder langsamer; die Zoogloea setzt sich dann zuletzt als ausserordentlich zähe Schleimmasse auf den Boden, von der sich nur schwer einzelne Partien abtrennen lassen. Stichkulturen in Agar zeigen ein weniger intensives Wachstum längs des Stichkanals; die Oberfläche derselben wird hautförmig überzogen. Der Farbstoff wird weder durch concentrierte Schwefelsäuere, Salzsäuere, Salpetersäuere, 4% schweflige Säuere, concentrierte Natronlauge, noch Eisenchloridlösung verändert und ist unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzin, wohl aber in Wasser.

Von gelben Sarcinen finden wir zwei Arten beschrieben (Vorlesungen über Bakterien von De Bary), wie folgt:

Kleine, etwa 16—32zellige Packete, in Mehrzahl entweder zu regelmässigen grösseren Würfeln oder zu unregelmässigen Haufen vereinigt; einzeln im hellen Gesichtsfeld des Mikroskops farblos, in Masse, im reflectierten Licht, schön hellgelb. Einzelzellen 1 bis 2 μ. gross. Membran durch Chlorzinkjod nicht, Protoplasma gelb gefärbt. Wächst gut auf Gelatine, die sie rasch verflüssigt, auf Agarl u. a. Von Schröters Sarcina latea jedenfalls durch die Gelatine-Verflüssigung verschieden.

Wir dürfen nach obiger Beschreibung wohl annehmen, dass vorliegende Sarcine mit der von De Bary beschriebenen identisch ist, obwohl der Farbstoff die von Lindner (Die Sarc.-Organismen d. Gährungs-Gewerbe 1888) beschriebene Farbenreaktion mit Schwefelsäuere nicht zeigt, was ja leicht eine Eigenschaft fortgesetzten Wachstums in einem speziellen Nährmedium sein kann.

Um zu versuchen, ob die Sarcine auch in ungefälschtem Most resp. Wein oder in Mischungen derselben mit Stärkezuckerlösung das Zähwerden hervorbringen kann, wurden zwei Moste, der eine aus schwarzen tiroler Malvasier, der andere aus weissen Oesterreicher, welch letztere in der Nähe von Schweinfurt gewachsen waren, ferner Weisswein jeweils zum Teil mit Stärkezucker versetzt, teils ungemischt belassen und sterilisiert; der Wein und dessen Mischung durch einstündiges Kochen am Rückflusskühler an zwei aufeinander folgenden Tagen. Die Moste und deren Mischung wurden mit einer Weinhefereinkultur, als auch mit Sarcine beschickt, der Wein nur mit Sarcine und bei 25° C. stehen gelassen, jedoch mit dem Erfolg, dass die Sarc. nach einem halben Jahr noch nicht zur Entwicklung gekommen war. Eine Nachimpfung nach der Gährung hatte ebenfalls keine Wirkung. Ob zum Ausbruch der Krankheit eine längere Inkubationszeit oder eine Vorbereitung des Weines oder Mostes durch einen andern Microorganismus, welch letzterer dann wieder überwuchert wird, nötig ist, kann zur Zeit nicht entschieden werden. Vielleicht waren es auch noch andere Manipulationen, die den Wein zu einem geeigneten Nährmedium machten, sich jedoch der chemischen Analyse entziehen. So viel scheint jedoch jetzt schon fest zu stehen, dass in einem gesunden unverfälschten Wein die Sarcine nicht wächst.

Als das Wachstum der Sarcine im Weine hemmende Körper können wir den Gehalt an Alkohol, an freier oder halb gebundener Säuere (Weinsäuere) und an schwefliger Säuere betrachten. Um die Maximalmengen dieser Körper, welche bei sonst günstigen Lebensbedingungen ein Wachstum der Sarcine verhindern, zu bestimmen, wurden folgende Versuche angestellt:

Elf Erlenmeyerkolben von circa 300 cbcm. Inhalt wurden mit 50 cbcm. neutraler Glycose — Fleischextract — Pepton-Nährlösung beschickt und 0,05%, 0,10%, 0,2%, 0,3% u. s. w. Weinsäuere hinzugefügt und nach dem Sterilisieren geimpft. Nach sechswöchentlichem Stehen bei einer Temperatur von 20° C. verhielten sich die einzelnen Versuche, wie folgt:

0,05% Weinsäuere:

Wachstum der Sarcine schwach. Die einzelnen Zellen weniger kugelig und sich meist in geraden Flächen berührend. Ungefärbte Präparate lassen keine grösseren Verbände erkennen, während mit Carbolfuchsin tingierte häutige Massen

zeigen, denen grössere Verbände anhaften. Die häutigen Massen finden sich auch in den nicht geimpften Controlflüssigkeiten und müssen als Ausscheidungen und nicht zur Sarcine gehörig angesehen werden.

0,10 % Weinsäuere:

Wachstum schwächer, sonst wie bei weniger Menge Weinsäuere.

0,2 %, 0,3 %, 0,4 %, 0,5 % Weinsäuere:

Microscopisches Bild wie bei 0,10 % Weinsäuere, Wachstum nur noch schwächer, Zellen etwas kleiner.

0,6 % Weinsäuere:

Es kann kein Wachstum mehr constatiert werden.

Alkoholculturen:

Zu diesen Versuchen wurden 10 Kolben von 250 ccm. Inhalt mit 50 ccm. Glykose-Fleischextract-Pepton Nährlösung beschickt und nach dem Sterilisieren jeweils 0,5, 1,0, 1,50, 2,00 ccm., 99 % Alkohol zugefügt und dann geimpft; es enthielt also in Prozenten ausgedrückt:

Kolben:	Vol. % Alkohol:
No. I	0,98
» II	1,9
» III	2,8
» IV	3,8
» V	4,7
» VI	5,6
» VII	6,4
» VIII	7,3
» IX	8,1
» X	9,0

Nach sechswöchentlichem Stehen bei einer Durchschnittstemperatur von 14° C. war das microscopische Bild bei No. 1: Zellen gut ausgebildet, fest zusammenhängend an Grösse denen der Agarculturen gleich kommend, grössere Verbände wurden nicht beobachtet, dagegen solche bis zu 4 Einzelpacketen im Durchmesser. Der durch die Sarcine verursachte Niederschlag war mässig stark, die darüber stehende Flüssigkeit klar; durch mässiges Schütteln stieg der Niederschlag fadig empor, um sich bei anhaltender Bewegung in der Flüssigkeit gleichmässig zu verteilen.

No. II: wie bei No. I.

No. III: Die Vegetation ist weniger stark. Die einzelnene Zellen im Allgemeinen regelmässig ausgebildet, dabei treten jedoch an den Verbänden ausserordentlich grosse Zellen

auf, wie das auch später gelegentlich der Temperatureinwirkung beobachtet wird. Diese grossen Zellen dürfen wir wohl als Involutionsformen betrachten.

No. IV: wie bei No III.

No. V: Es kann kein Wachstum mehr constatiert werden.

Während, wie wir sahen, Weinsäuere und Alkohol in ziemlicher Menge das Wachstum nur mässig beeinträchtigten, hat sich die schweflige Säuere in schon kleinen Mengen dem Gedeihen des Bakteriums feindlich erwiesen.

Es wurden ebenfalls zehn Kolben mit der oben erwähnten Nährlösung in gleicher Menge beschickt und nach dem Sterilisieren jeweils schweflige Säuere in unten angedeuteten Mengen zugefügt, geimpft und bei gleicher Temperatur wie die Alkoholculturen stehen gelassen.

Kolben I enthielt 0,008 % schwefl. Säuere. Die Sarcine ging hierin an und waren die einzelnen Zellen gut entwickelt. Der Sarcinecharakter war leicht erkennbar, grössere Verbände fehlten, das Wachstum war wenig reichlich.

Kolben II enthielt 0,026 % schweflige Säuere. Hierin war schon kein Wachstum mehr bemerkbar und um so weniger in den folgenden, welche noch mehr Säuere enthielten.

Um noch weitere neue Eigenschaften der Sarcine zu erfahren, wurde, wie folgt, experimentiert:

Als Kohlenstoffquellen wurden Kohlenhydrate unter besonderer Berücksichtigung optisch activer Saccharide, sechswertige Alkohole, die sich in ihren Eigenschaften den Zuckerarten nähern, optisch active Säueren resp. deren Gemische, Malein- und Fumarsäuere, ferner als Nährmedien im Allgemeinen einige Medizinen, Milch, Bierwürze, Malzextraktlösung, Kartoffel, Heuinfuss und einige Gelatinen verwendet. Den Sacchariden, Alkoholen und Säueren wurden Nährsalze in Gestalt von Dikaliumphosphat, Magnesiumsulfat und Chlorcalcium zugefügt, während erstere als Stickstoffquelle, Chlorammonium, letztere ihre neutralen Ammoniumsalze erhielten. Da nach der Sterilisation alle diese Nährmedien sauere Reaktion durch Verflüchtigen eines Teiles des Ammoniaks erhalten hatten, wurde je ein Kolben mit einer Spur ausgeglühten kohlens. Natriums schwach alkalisch gemacht und dann die Sarcine sowohl in sauerem als auch alkalischem Nährmedium versucht. Von den Kohlenhydraten kamen 5 bis 6 % (Gew.) von Lävulose 1 : 30, während die Säueren 1 % in Anwendung kamen.

Traubenzucker.

Alkalisch: Reichliches Wachstum in Gestalt eines zähen Niederschlages. Die einzelnen Zellen gut entwickelt, viele zu zweien, während andere deutlich Packetform und daraus entstandene Verbände zeigen.

Sauer: Schwaches Wachstum, die einzelnen Zellen gut entwickelt. Sarcineform nicht schön ausgebildet, grössere Verbände fehlen.

Fruchtzucker.

Alkalisch: Starker, zäher Niederschlag von Sarcinevegetation herrührend. Zellen gut ausgebildet, Sarc.-Form nicht immer gut erkennbar, öfters in Verbänden bis 4 Packete im Durchmesser, während grössere fehlen.

Sauer: Spärliches Wachstum, Zellen etwas kleiner als in alkalischer Lösung, jedoch fast ausschliesslich in schönen Einzelpacketen.

Rohrzucker.

Alkalisch: Starker, schmutzig-gelber Niederschlag durch ausserordentlich starkes Sarc.-Wachstum bedingt. Form der Zellen gut ausgebildet, jedoch etwas klein, meist bis zu 1 μ Durchmesser, sehr viele zu zweien, daneben gut ausgebildete Packete nebst grossen Verbänden, die oft einen Durchmesser bis zu 50 μ zeigen.

Sauer: Weniger starkes Wachstum, Niederschlag schwach zäh, Zellen meist 2 μ gross, ohne dass eine Teilungsfurche zu erkennen ist, sehr gut ausgebildete Packete und vereinzelte grössere Verbände.

Milchzucker.

Alkalisch: Sehr schwaches Wachstum, Zellen klein, keine charakteristischen Sarcineformen.

Sauer: Kein Wachstum constatierbar.

Maltose.

Alkalisch: Starker, zäher, an der Glaswandung anhaftender Niederschlag von Sarc. herrührend, Zellen schön rund, Packetform gut erkennbar, neben Einzelpacketen und Diplococcen grössere Verbände.

Sauer: Schwaches Wachstum, Zellen etwas eckig, sonst ziemlich gross, grössere Verbände fehlen, Sarcineform gut erkennbar.

Dextrin.

Alkalisch: Ausserordentlich starkes Wachstum in Gestalt eines schmutzig-gelben, wenig zähen Niederschlags. Die Zellen sind bis 1,5 μ gross, gut ausgebildet, lassen die Sarcineform leicht erkennen, grössere Verbände fehlen.

Sauer: Kaum ein Wachstum erkennbar.

Mannit.

Alkalisch: Mässig starkes Wachstum, die einzelnen Zellen gut entwickelt, rund, Packetform gut erkennbar, grössere Verbände fehlen.

Sauer: Wie bei vorigem, nur Wachstum noch schwächer.

Dulcit.

Alkalisch: Geringer, weisser Niederschlag, der auch in den nicht geimpften Kolben zu finden ist und bei der Sterilisation durch Salzausscheidung entstand. Keine, auch nur schwache Gelbfärbung erkennbar. Sarcine ausserordentlich stark gewachsen, die einzelnen Zellen höchstens 1 μ im Durchmesser. Sarcineform sehr schön und oft in Verbänden bis 150 μ im Durchmesser. In diesem Nährmedium hat also das Bakterium seine Eigenschaft eine nennenswerte Menge Farbstoff zu producieren verloren.

Sauer: Schwächeres Wachstum, keine Verbände, sonst wie bei vorigem.

Rechtsweinsäuere.

Alkalisch: Ziemlich starkes Wachstum, gut ausgebildete Packete, grössere Verbände, bis zu 100 μ Durchmesser. Die einzelnen Zellen sind regelmässig und normal ausgebildet.

Sauer: Mässig starkes Wachstum, gute Packetformen, grössere Verbände fehlen, sonst wie in alkal. Lösung.

Traubensäuere.

Alkalisch und »Sauer«: Analog wie bei Rechtsweinsäuere.

Zu einem Versuch mit den beiden folgenden Körpern erhielt ich Anregung durch eine Notiz aus der Gährungschemie von Ed. Buchner (Bericht der deutschen chemischen Gesellschaft Jahrg. XXV. Heft 6). In dieser Arbeit sagt der Autor unter Anderem: Es schien mir nun von Interesse zu constatieren, ob ähnliche Unterschiede in der Verwendbarkeit für die Ernährung der Mycelpilze wie zwischen optisch activen Isomeren auch zwischen stereochemisch isomeren Verbindungen, welche nur relativ asymmetrische Kohlenstoffatome *) besitzen, also zwischen Körpern vom Typus der Fumar- und der Maleinsäuere nachzuweisen seien. Zunächst kamen Fumar- und Maleinsäuere selbst zur Verwendung. In der That ergab sich ein eclatanter Unterschied; bei einer Reihe von Parallelversuchen, welche unten aufgeführt wer-

*) von Bayer, Ann. Chem. Pharm. 245, 130.

den sollen, zeigte sich sowohl für Penicillium glaucum bei Zimmertemperatur als für Aspergillus niger bei 30—35°, dass, während Fumarsäuere zur Bildung der Körpersubstanz der Mycelpilze sehr geeignet ist, Maleinsäuere durchaus keine Verwendung finden kann; in Lösungen der letzteren Verbindung bildete sich auch nach Wochen nur ein äusserst spärliches Hyphengeflecht, dessen Entstehung auf Rechnung der mit den Gonidien zur Aussaat gelangten Reservenährstoffe zu setzen ist.

Ich verfuhr hier in ähnlicher Weise, und wurden folgende Resultate erzielt:

Maleinsäuere.

Alkalisch: Fast kein Wachstum bemerkbar. Die ganze Vegetation erstreckt sich auf wenige Einzelpackete oder solche mit ein bis höchstens zwei Sprossen.

Sauer: Wie in alkal. Nährmedium.

Fumarsäuere.

Alkalisch: Wachstum spärlich, keine grösseren Verbände, sonst wie in sauerem Nährmedium.

Sauer: Die Sarcine überzieht als starker gelber Niederschlag den Boden des Gefässes, der mit Ausnahme einiger Teile leicht durch gelindes Schütteln in der Flüssigkeit suspendiert werden kann. Die aus der aufgeschüttelten Flüssigkeit entnommene Probe zeigt Packete und sehr viele Diplococcen, bei denen alle Zellen wohl ausgebildet sind, grössere Verbände fehlen. Die an der Glaswand haften gebliebenen Teile zeigen, neben Einzelpacketen, Verbände bis aus 8 Packetgliedern im Durchmesser bestehend.

Diese Säuere zeigt in so fern ein vollständiges anderes Verhalten als die übrigen Körper, da hier in sauerer Lösung ein stärkeres Wachstum als in alkalischer bemerkbar war.

10% Malzextractlösung:

Wachstum stark. Neben der spezifischen Packetform wechseln Verbände bis zu 10 Teilpacketen im Durchmesser. Die einzelnen Zellen sind teils rund, teils etwas eckig unregelmässig geformt; letzteres ist vorherrschend.

Bierwürze:

Körniger Niederschlag, der sich zum Teil fest an die Gefässwand ansetzt.*) Sarcine wohl ausgebildet und sowohl in kleinen als auch grösseren Verbänden sichtbar, denen fast

*) In der nicht geimpften Würze ist ebenfalls ein festsitzender Niederschlag zu bemerken, derselbe ist jedoch gleichmässig, nicht körnig.

immer braungelbe unregelmässige Massen anhängen und so die Gestaltung oft schwer erkennen lassen. In einem Versuche mit einer anderen Würze, die einige Monate hindurch bei gewöhnlicher Temperatur stand, war die Sarcine weniger gut ausgebildet, die besagte Würze schleimig geworden.

Milch:

Dieselbe blieb etwa vier Wochen lang ohne macro-, noch microscopisch sichtbare Spuren des Wachstums der Sarcine. Einige Tage nach dieser Frist machte sich am Boden des Gefässes eine leichte Gelbfärbung bemerkbar und konnte nun das Bakterium in ziemlich reichem Masse constatiert werden. Die unter dem Fette befindliche Flüssigkeit verliert nun rasch ihre weisse Farbe, wird wässerig und gelblich-schmutzfarben; während dessen vermehrt sich die Sarcine in ungeheuerer Menge und bildet eine zähe, gelbe Schleimmasse, die sich am Boden des Gefässes ansetzt. Mit zunehmendem Wachstum tritt in der Milch ein intensiver werdender, eckelerregender Geruch auf. Die Sarcine ist sowohl in Grösse und Form der auf Agar gewachsenen gleich gediehen, jedoch fehlen grössere Verbände.

Von Medizinen impfte ich solche, wie sie Apotheker Hauer als gelatinierfähig, allerdings durch andere Bakterien bezeichnete (No. 24 der süddeut. Apotheker-Zeitung, Jahrg. XXXII).

I.

Inf. digitalis 1:130
Kal. acet. 5,00
Syr. rub. id. 15,00

Mässig starkes Wachstum. Die einzelnen Sarcinen zeigen gut die Packetform und besitzen normal gross ausgebildete Zellen. Einige Zellen sind schwach eckig, die meisten jedoch rund. Grössere Verbände wurden nicht gefunden.

II.

Decoct. altheae 200,00
Syr. senegae 15,00

Ausserordentlich grosser Niederschlag, von der Sarcine herrührend, Packete und Einzelzellen derselben schön ausgebildet, Verbände bis höchstens acht Zellreihen im Durchmesser.

III.

Decoct. senegae 4:150,00
Extr. opii 0,05
Succ. liquir. 1,00
Syr. gummos. 25,00

Wachstum spärlich, Packetform schwer erkennbar. Die einzelnen Zellen sind wenig gut ausgebildet, grössere Verbände fehlen.

III.

Inf. digital. 1 : 150,⁰⁰
Liq. kal. acet. 20,⁰⁰
Syr. aur. cort. 25,⁰⁰

Niederschlag durch das Bakterium bewirkt stark, sitzt in Gestalt von zähen, gelben Flocken ziemlich fest am Boden des Gefässes. Zellen ausserordentlich gross geworden, oft bis 3 μ im Durchmesser, gut ausgebildet, Packetform sehr gut erkennbar. Sehr grosse Verbände wechseln mit kleinen und Einzelpacketen.

V.

Inf. digital. 2 : 200,⁰⁰
Kal. tartaric. 10,⁰⁰
Syr. rub. id. 30,⁰⁰

Wie bei Medizin I, nur Wachstum noch spärlicher.

VI.

Inf. digital. 1 : 120,⁰⁰
Kal. acet. 5,⁰⁰

Niederschlag der Sarcine in kleinen gelblich-weissen Flocken dem Boden des Gefässes ansitzend. Die einzelnen Zellen gut ausgebildet und meist sehr eng mit glatten Flächen aneinander gelagert. Sehr grosse Verbände fehlen.

Heudekokt:

Wachstum spärlich, meist nur einzelne Packete, deren Zellen mit glatten Flächen aneinander liegen. Zellen als solche stark ausgebildet, Sarcinecharakter sehr deutlich.

In Wein-, Most-, Bierwürze und gehopfter Bierwürzegelatine ergaben Impfversuche negative Resultate.

Auf Kartoffelscheiben beschränkt sich das Wachstum auf die Impfstelle. Dieselben repräsentieren sich im Anfang als gelbe Pünktchen, wachsen dann später in die Höhe und erinnern in ihrer Form öfters an die der Hutpilze. Das Wachstum war selbst bei dem Temperaturoptimum 30° C. ein sehr langsames. Das Aussehen der Sarcine, sowohl was einzelne Zellen als auch Verbände anbelangt, glich dem der Gelatineculturen.

Lebensdauer in ausgetrocknetem Zustand:

Um über diesen Punkt Auskunft zu erhalten, wurde mit einer Platinöse etwas von der Kartoffelcultur auf den Boden eines sterilen Reagensglases gebracht, mit einem Watte-

pfropfen verschlossen und nun einer Temperatur von 30° C. überlassen. Die Sarcine trocknete dabei zu einer hornartigen Masse aus, welche noch nach 3 Monaten lebensfähig war, was durch Abimpfungen festgestellt wurde.

Bestimmung der Tötungstemperatur in flüssigem Nährmedium.

Es wurden eine Anzahl gleichmässig englumiger, dünnwandiger Reagensgläser mit Fleischextrakt-Glykose-Peptonlösung beschickt, sterilisiert, geimpft und dann dem Temperaturoptimum ausgesetzt. Nach einigen Tagen war eine starke Vegetation entstanden. Nun wurden sämtliche Gläser in ein Wasserbad gebracht, auf 40° C. erhitzt, 10 Minuten bei dieser Temperatur belassen, dann langsam 5 Grade höher gegangen, ebenfalls 10 Minuten belassen und so fortgefahren, bis 100° C. erreicht waren. Dann wurden aus jedem Reagensglas Abimpfungen gemacht und ebenfalls dem Temperaturoptimum ausgesetzt. Während aus der bei 65° C. belassenen Colonie noch Abimpfungen gelangen, missglückte es bei der von 70° C. Die Temperatur 65° C. hatte aber in so fern störend gewirkt, als die daraus abgeimpften Versuche Colonien zeugten, deren Zellen bis nur 1 μ Durchmesser hatten und die Sarcineform in ihrer schönen Regelmässigkeit kaum mehr zum Ausdruck brachten. Um nun den Abtötungsgrad noch näher zu bestimmen, wurden von den in obiger Nährlösung gewachsenen Colonien, welche auf 66, 67, 68, 69° C. jeweils 10 Minuten wie oben belassen und durch Abimpfung gefunden, dass die bei 69° C. gehaltenen Colonien abgestorben waren. Es muss hier noch bemerkt werden, dass durch wiederholte Controlversuche gefunden wurde, dass die Temperatur in den Reagensgläsern jeweils zwei Grad weniger war, als die des Wasserbades und somit die Tötungstemperatur bei 67° C. liegt.

Was das microscopische Aussehen betrifft, so war bis 60° C. nichts Bemerkenswertes zu erkennen. Bei 60° C. waren die Zellen etwas geschrumpft bis zu einem allgemeinen Durchmesser von 1 μ. Von 65° bis 75° C. waren einzelne Zellen stark gequollen, oft bis 2,5 μ Durchmesser, dabei war der Zellinhalt der nicht gequollenen teils deutlich körnig, der anderer gleichmässig lichtbrechend. Von 75° C. an verschwinden die grossen Zellen, die einzelnen Bakterien haben das Aussehen von denen bei 65° C. belassenen, welches sie auch behalten, nachdem sie in ihrem Nährmedium 5 Minuten der Siedetemperatur ausgesetzt waren.

Versuche, die Sarcine anaërob zu züchten, misslangen.

Fassen wir die durch vorliegende Versuche bemerkenswerten Erscheinungen zusammen, so finden wir, dass bei besprochener Sarcine:

1) Impfversuche in Most und Wein misslangen.

2) 0,6 Gew.%, 4,7 Gew.% Alkohol und 0,026 Gew.% schweflige Säuere wirken bei sonst günstigen Lebensbedingungen wachstumswidrig.

3) Kleine Mengen Weinsäuere stören das Wachstum.

4) 1,9 Vol.% Alkohol begünstigt die Ausbildung der einzelnen Zellen, während 2,8 % schon das Wachstum schwächen und Involutionsformen hervorbringen.

5) Die optische Activität isomerer Körper als Kohlenstoffquelle hat keinen Einfluss auf die Assimilationsfähigkeit, während die einzelnen Nährmedien, ferner Aciditat auf Gestaltung und Anordnung der Zellen einen sichtbaren Einfluss ausüben. Die Fähigkeit, Farbstoff zu producieren, hängt ebenfalls vom Nährmedium ab (Dulcit).

6) Bemerkenswert sind Fumar- und Maleïnsäuere, indem erstere leicht und zwar merkwürdiger Weise in sauerer Lösung resorbiert wird, während das von letzterer in jeder Weise zu negieren ist.

7) Die Sarcine kann das Zähwerden von Flüssigkeiten bedingen.

8) Eine Inkubationszeit kann nicht abgeleugnet werden, wie das aus den Milchculturen ersichtlich.

9) Austrocknen beeinträchtigt die Keimfähigkeit der Sarcine auf lange Zeit nicht.

10) 10 Minuten langes Erhitzen der Sarcine in einer Flüssigkeit auf 67° C. tötet dieselbe.

11) Die Sarcine ist streng aërob.

Beitrag
zur Kenntnis der Hefen.

Mit dem Aufblühen der Bakteriologie Hand in Hand geht die richtige Erkenntnis über das Wesen der Hefen.

Von allen Gährungen, die wir kennen, ist es besonders die Alkoholgährung, welche als Hauptfaktor ausgedehnter Gewerbe die grösste Aufmerksamkeit auf sich lenkt.

Bis vor noch gar nicht langer Zeit hat man in dieser Hinsicht immer mehr die chemische Seite betrachtet, da man über den Einfluss der Hefen auf die Gährung so gut wie gar nichts wusste.

Pasteur suchte seine geniale Idee, dass nur die Hefe es ist, welche eine gesunde Alkoholgährung bewirke, in seinem 1871 gegen Deutschland begonnenen Bierkriege zu verwirklichen. Dass die Realisierung seines Gedankens nicht nach Wunsch ausfiel, ist genugsam bekannt und verdankt er dieses Misslingen einer ungenügenden Kenntnis der Hefen.

Die Arbeiten von Rees und Anderer haben zur Erkenntnis geführt, dass unter der Hefe morphologisch und physiologisch verschiedene Formen unterschieden werden müssen. Man beginnt daher auch von nun ab in den Gährungsgewerben ein Hauptaugenmerk auf die physiologischen Eigenschaften der Hefe zu richten und ist es in neuerer Zeit besonders Hansen, der, die Grundsätze der heutigen Bakterienforschung benützend, überraschende Resultate zu liefern im Stande war und sie der Praxis dienstbar machte.

Vorerst führte Hansen rein gezüchtete Hefen in den Brauereien ein und wies zugleich nach, dass unter den Hefen die grössten Feinde einer gesunden alkoholischen Gährung zu suchen sind.

Nur wenige resp. weniger exakte Bearbeitungen haben bis jetzt die Hefen erfahren, welche in der Weinbereitung Verwendung finden. Dass aber auch hier die von Hansen gegebenen Forschungsresultate im Allgemeinen gelten, dürfen wir keinen Augenblick bezweifeln. Eine durch vielfache Versuche bewiesene Bestätigung dieser Ansicht finden wir in einer Arbeit

von Wortmann (Landwirtschaftliche Jahrbücher). Die nachfolgende Arbeit soll in ähnlichem Sinne einen Beitrag bilden.

Was das Experimentieren anbelangt, so wurden die schon in voriger Arbeit gegebenen Grundsätze beobachtet. Als Nährmedium wurde ein Schweinfurter weisser Most gewählt. Die vier Hefen, welche hier in Betracht kamen, waren: No. I aus Bierhefegemisch, No. II aus Kefirknollen, No. III aus gährendem Traminermost, No. IV aus gährendem Rieslingmost gezüchtet. No. I war Erlanger, No. III und IV Pfälzer Herkunft.

No. I: Im Anfang präsentieren sich sowohl die tiefer als auch die an der Oberfläche liegenden Colonien der Plattenculturen in kugeliger Form. Die an der Oberfläche befindlichen breiten sich langsam aus, indem sie dann zugespitzt cylinderisch in die Höhe wachsen, um sich in einer gewissen Höhe umzubiegen, wodurch sie die Gestalt eines Gemshornes erlangen. Der auf der Oberfläche der Gelatine sich ausbreitende Teil ist schwach gelappt, die ganze Colonie weiss mit einem Stich in Gelb-grau. Diese Stichcultur wächst körnig längs des Stichcanals, breitet sich dann auf der Oberfläche der Gelatine aus, dieselbe von oben nach unten langsam verflüssigend. Die einzelnen Zellen sind meist oval, selten fast rund, besitzen starke Wandungen, meist körniges Plasma und selten Vacuolen. Die aus dem gährenden Most entnommenen Hefezellen sind 7,4 bis 5,5 μ lang und 5 bis 4 μ breit. Im übrigen zeigen sie dasselbe microscopische Bild wie in den Gelatinecolonien und ist auch hier die stark verdickte Epidermis hervorzuheben. Versuche, aus dem gährenden Most entnommene Zellen auf Gypsplatten zur Sporenbildung zu bringen, misslangen. Alkoholproduktion nach 4 Wochen (Ende der Gährung) bei 25 C. = 6,7 Gew. %.

No. II: Die Kefirknollen wurden in sterile, sauere Nährlösung gebracht und aus der gährenden Flüssigkeit durch Abimpfen die Reincultur erhalten. Die jugendlichen Culturen waren rund, weiss, später breiteten sie sich aus und hatten dann schwach gelappten Rand. Die einzelnen Zellen sind gross, unregelmässig, oft eckig, eliptisch, manche langgestreckt, einige in jeglicher Gestalt sprossend, mit meist grossen Vacuolen versehen. Die Stichcultur zeigt ein körniges Wachstum längs des Stichkanals, später breitet sie sich auf der Oberfläche aus und verflüssigt von da ab langsam die Gelatine. Die in der Gährthätigkeit befindlichen Zellen sind 11 bis 7,5 μ lang und 9,5 bis 6 μ breit, meist fast rund,

Wandungen mässig stark entwickelt. Im Innern finden wir bei vollständig ausgebildeten Zellen ein, selten zwei, grosse Vacuolen neben einer Menge Microsomen; letztere befinden sich der Mehrzahl nach im Plasma, während nur wenige in den Vacuolen erblickt werden; ist jedoch letzteres der Fall, so besitzen sie meist eine zitternde Bewegung. Nach 5 Tagen zeigten sich bei 10° C. die ersten Anlagen der Sporen. Die Gypsculturen wurden nun einer Temperatur von 20 C. ausgesetzt und hatten sich auf diese Weise nach acht Tagen die Sporen vollständig ausgebildet. Dieselben differieren in ihrer Zahl zwischen 2, 4, selten 6 und noch mehr. Was die Lage der Sporen anbelangt, so sind dieselben in einer Ebene oder nach drei Richtungen des Raumes angeordnet. Besonders ist es die Vierzahl, welche hier Verschiedenheiten aufweist. Hier bemerken wir entweder alle vier in einer Ebene, oder es liegen drei in einer Ebene, während die vierte ihnen aufsitzt, oder es liegen zwei höher, zwei tiefer. Die einzelnen Sporen haben in dem ganzen Plasma verteilt liegende Microsomen, selten Vacuolen. An den Wandungen der Mutterzellen ist öfters das restierende Plasma zu erkennen.

Alkoholproduktion: 5,8 Gew. %.

No. III: Junge Colonien schön glänzend weiss, kugelrund, mit der Zeit sich ausbreitend, dann Rand unregelmässig gelappt, während gegen das Centrum rote Punkte auftreten, deren Farbe gegen die Peripherie zu allmählich verbleicht. Zellen der Peripherie meist gross und fast rund mit Vacuolen, selten etwas eliptisch, dann kleiner und sprossend und ohne Vacuolen. Die Zellen des Centrums d. h. in den rot gefärbten Partien gerade so, jedoch mit Involutionsformen untermischt. Stichculturen zeigen das gleiche Verhalten wie Hefe I und II. In dem verflüssigten Teil setzt sich die Hefe als Satz fest und zeigt dann an einzelnen Stellen ebenfalls die roten Partien. Die in Gährthätigkeit befindlichen Zellen sind 7 bis 3,5 μ lang und 5,8 bis 3 μ breit, meist schwach eliptisch bis fast rund, Protoplasma meist gleichmässig körnig, während besonders die grossen Zellen grosse Vacuolen besitzen. Wenige Zellen mit Sprossen sind vorhanden. Diese Hefe bildet schon sehr bald nach ihrer Aussaat eine wenig stark zusammenhängende Decke. Die Zellen derselben waren 6 bis 3 μ lang und 3,7 bis 1,5 μ breit, meist langgestreckt. Ihr Plasma ist ausserordentlich höckerig ohne Vacuolen. Man bemerkt sehr viele Sprosse

und oft fest zusammenhängende grössere Verbände. Keine Sporenbildung beobachtbar.

Diese Hefe erinnert an die von Kramer (Oesterr. landw. Centralblatt Bd. I 1891) beschriebene. Alkoholproduktion: 3,6 Gew. %

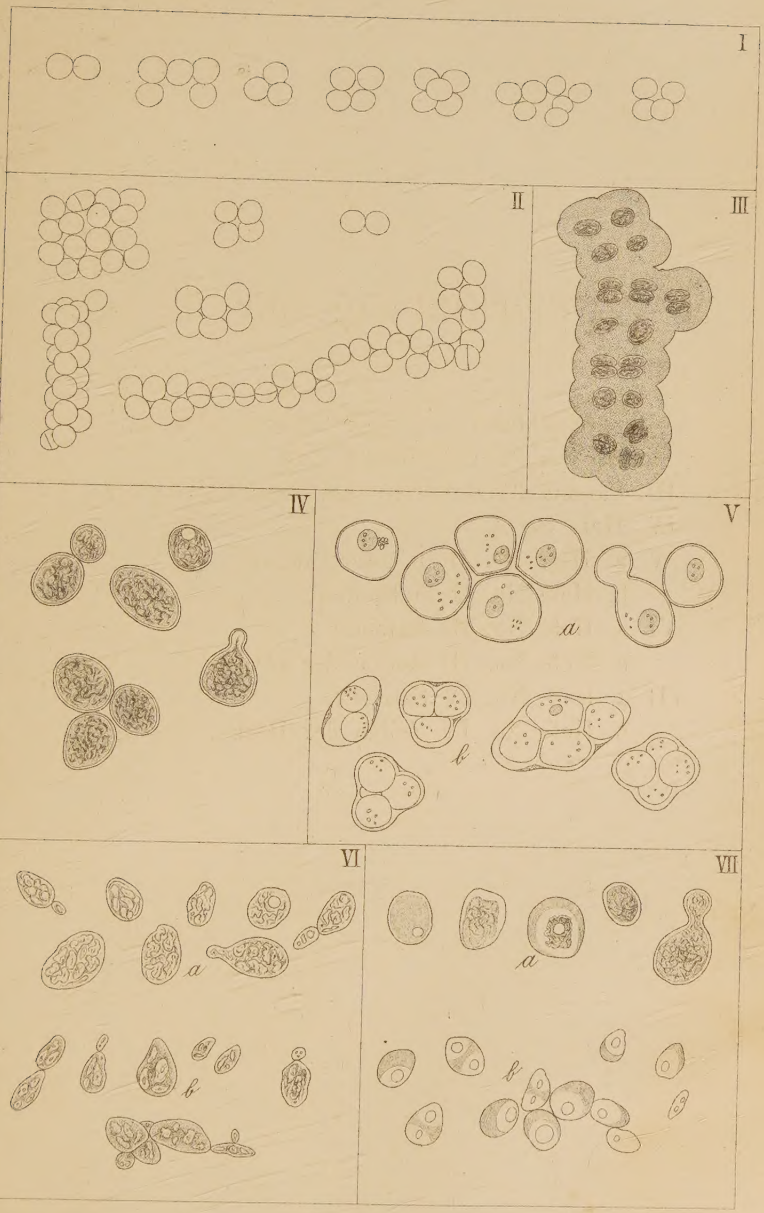
No. IV: Colonien rund, sich später unregelmässig lappig ausbreitend. Die Zellen der Colonien sind gross und rund, nur wenige sprossend. Stichcultur wie bei den übrigen. Die Zellen der in Gährung befindlichen Flüssigkeit sind 8 bis 3 μ lang und 6,7 bis 3 μ breit, fast rund, sehr verschieden gross, Plasma der grösseren oft central contrahiert, während das der kleineren und sprossenden meist das ganze Lumen ausfüllt und meist körnig ist. Vacuolen sind selten. Epidermis meist sehr stark. Diese Hefe zeigt wie die vorige sehr bald nach ihrer Aussaat die Deckenbildung. Die Zellen der Decke sind 6,7 bis 3,7 μ lang, 5,8 bis 3 μ breit, mässig oval, manche fast rund, fast alle besitzen ein, meistens jedoch zwei kleine Vacuolen. Das Plasma ist nicht körnig, jedoch erblicken wir oft dunklere Partien, die sich bald halbmondförmig an die Innenwand anlagern, bald durch die Vacuolen getrennt einen Gürtel bilden. Auch hier sehen wir wieder grössere Verbände. Alkoholproduktion: 3,7 Gew. %.

Vorliegende Untersuchungen wurden unter Leitung des Herrn Professor *Dr. Reess* am botanischen Institut zu *Erlangen* ausgeführt.

Herrn Professor *Dr. Reess*, meinem hochverehrten Lehrer, für die vielseitige Anregung und Unterstützung, sowie das überaus liebenswürdige Entgegenkommen bei Anfertigung der Arbeiten meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen, ist mir eine angenehme Pflicht.

Figurenerklärung der Tafel.

I. Sarcina flava in jungen Gelatineculturen.
II. Sarcina flava in älteren Culturen.
III. Sarcina flava, Zellen und Zoogloea tingiert.
IV. Hefe No. I.
V. a. Hefe No. II in Gährthätigkeit.
b. Hefe No. II in Sporenbildung.
VI. a. Hefe No. III Satzhefe.
b. Hefe No. III Zellen der Decke.
VII a. Hefe No. IV Satzhefe.
b. Hefe No. IV Zellen der Decke.


I
II
III
IV
V
a
b
VI
a
b
VII
a
b